FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON
Année scolaire 1897-98. — N° 59.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DE LA

CONCURRENCE VITALE

CHEZ LES MICROORGANISMES

Antagonisme entre les Moisissures et les Microbes

THESE

PRÉSENTÉE
A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON
Et soutenue publiquement le 17 Décembre 1897
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Ernest DUCHESNE
Né le 30 mai 1874, à Paris (Seine),
Élève de l'École du Service de Santé Militaire.



LYON
ALEXANDRE REY, IMPRIMEUR DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
4, RUE GENTIL, 4

Décembre 1887

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. LORTET. . . . . Doyen.
LÉPINE . . . . Assesseur.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. PAULET, BOUCHACOURT, CHAUVEAU, BERNE.

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM. LÉPINE. BONDET.
Cliniques chirurgicales	OLLIER. PONCET.
Clinique obstétricale et Accouchements	FOCHIER.
Clinique ophtalmologique	GAYET.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GAILLETON.
Clinique des maladies mentales	PIERRET.
Physique médicale	MONOYER.
Chimie médicale et pharmaceutique	HUGOUNENQ.
Chimie organique et Toxicologie	CAZENEUVE.
Matière médicale et Botanique	FLORENCE.
Zoologie et Anatomie comparée	LORTET.
Anatomie	TESTUT.
Anatomie générale et Histologie	RENAUT.
Physiologie	MORAT.
Pathologie interne	TEISSIER.
Pathologie externe	AUGAGNEUR.
Pathologie et Thérapeutique générales	MAYET.
Anatomie pathologique	TRIPIER.
Médecine opératoire	POLLOSSON (M.)
Médecine expérimentale et comparée	ARLOING.
Médecine légale	LACASSAGNE.
Hygiène	BARD.
Thérapeutique	SOULIER.
Pharmacie	CROLAS.

PROFESSEURS ADJOINTS

Clinique des Maladies des Femmes	LAROYENNE.

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

Clinique des Maladies des Enfants	WEILL agrégé.
Accouchements	POLLOSSON (A.) —
Botanique	BEAUVISAGE. —

AGRÉGÉS

MM.	MM.	MM.	MM.
BEAUVISAGE.	POLLOSSON (A.)	BOYER.	BARRAL.
CONDAMIN.	ROCHET.	VALLAS.	MOREAU.
CHANDELUX.	ROLLET.	SIRAUD.	CAUSSE, chargé des fonctions d'agrégé.
COURMONT.	ROQUE.	DURAND.	BORDIER —
DEVIC.	ROUX.	DOYON.	
GANGOLPHE.	COLLET.		

M. BEAUDUN, Secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. LÉPINE, *Président ;* M. ROQUE, *Assesseur ;*
MM. ROUX et CONDAMIN, *Agrégés.*

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A MA GRAND'MÈRE MME V^VE DUCHESNE-HAPEL

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

A MA FAMILLE

A MON AMI LE DOCTEUR VICTOR GRYSEZ

A mon Président de Thèse

M. LE PROFESSEUR LÉPINE

Professeur de Clinique médicale,
Correspondant de l'Institut,
Officier de la Légion d'Honneur.

A M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ G. ROUX

Directeur du Bureau Municipal d'Hgyiène.

Ce modeste travail marque la fin de nos études médicales.

A tous ceux qui nous ont témoigné de la sympathie et de l'intérêt, nous adressons nos sentiments de profonde gratitude.

Pendant notre séjour à l'Ecole, nous avons contracté de nombreuses dettes de reconnaissance envers tous ceux qui se sont occupés de notre éducation médicale.

M. le professeur agrégé Roux nous a accueilli avec bienveillance dans son laboratoire, et, pendant plus d'une année, il nous a prodigué les conseils de sa haute expérience et les témoignages de sa bienveillante sympathie; notre reconnaissance ne se bornera pas à ces quelques mots de remerciement.

M. le professeur Lépine a bien voulu prendre ce modeste travail sous le patronage de sa haute autorité, en acceptant la présidence de notre thèse; nous le prions d'agréer nos plus vifs remerciements et de croire qu'un tel honneur sera la meilleure récompense de nos peines.

M. le Dr Bouveret, médecin des Hôpitaux, a été pour nous un maître éclairé au cours de notre stage hospitalier; nous n'oublierons ni ses savantes leçons, ni les précieux conseils qu'il a bien voulu nous donner.

M. le commandant Abonneau nous a prodigué les marques du plus vif intérêt : nous saisissons la première occasion qui s'offre à nous de lui témoigner notre profonde reconnaissance.

Nous prions nos chefs de recevoir ici l'hommage de notre respect. C'est à eux que nous devons la meilleure part de nos connaissances médicales. MM. les médecins-majors Hassler, Boisson et Sieur furent nos maîtres à l'hôpital Desgenettes. Qu'ils veuillent bien nous pardonner de leur avoir quelquefois rendu la tâche ingrate.

M. le médecin-major Ecot a fait preuve d'une constante bienveillance à notre égard; à lui s'adressent aussi une grande part de nos remerciements.

Pendant ces trois années de vie commune, nos camarades nous ont donné de nombreuses preuves de sympathie, qu'ils reçoivent ici le témoignage de notre estime et l'assurance de notre dévouement.

INTRODUCTION

La question de la concurrence vitale n'a bien été étudiée jusqu'ici que pour les êtres supérieurs, animaux et végétaux. Il n'est pas sans intérêt de voir si, chez les infiniment petits, cette lutte pour l'existence n'existe pas aussi, et nous avons pensé qu'on pourrait peut être en tirer des notions utiles à la pathologie et à la thérapeutique.

Le rôle des microbes dans la genèse des maladies nous est maintenant bien connu : nous savons que, non seulement ils engendrent ces maladies, mais qu'ils peuvent aussi en être les remèdes, soit par leurs cultures atténuées, soit par leurs produits de sécrétion. L'idée n'est pas nouvelle d'opposer à certaines espèces pathogènes l'activité vitale d'autres espèces, mais jusqu'ici les résultats n'ont pas été satisfaisants.

C'est pourquoi nous nous sommes demandé s'il ne fallait pas chercher dans une autre voie et si, à l'activité vitale des microbes, il ne fallait pas opposer celle d'une espèce très voisine, mais ne présentant pas les mêmes propriétés pathogènes : les moisissures.

Cette étude demandait beaucoup de temps et de compétence pour être menée à bien, aussi nous ne nous dissimulons pas que nous n'avons fait que l'ébaucher, et nous n'avons d'autre prétention que d'y avoir apporté ici nne très modeste contribution.

Dans un premier chapitre, nous passerons en revue quelques travaux qui se rapportent à cette question.

Les conditions d'existence des moisissures feront le sujet du deuxième chapitre et nons rechercherons en particulier pourquoi les moisissures ne se trouvent pas dans l'ean.

Le troisième sera consacré à la description de la lutte entre les microbes et les moisissures.

Nous terminerons eu recherchant les conditions et les causes de cette lutte et démontrerons que les toxines microbiennes ne semblent pas y avoir une action importante. Enfin, nous exposerons les applications possibles à la thérapeutique et à l'hygiène.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DE LA

CONCURRENCE VITALE

CHEZ LES MICROORGANISMES

Antagonisme entre les Moisissures et les Microbes

CHAPITRE PREMIER

QUELQUES EXEMPLES DE CONCURRENCE VITALE ENTRE BACTÉRIES

Lorsqu'on observe la nature, dit Darwin, il est de la dernière nécessité d'avoir toujours présent à l'esprit que toute espèce organisée, isolée autour de nous, doit être regardée comme s'efforçant dans toute la mesure de son pouvoir, de s'accroître en nombre ; que chaque individu ne vit qu'en raison d'un combat livré à quelque période de sa vie et dont il est sorti vainqueur ; et qu'une loi de destruction inévitable décime soit les jeunes, soit les vieux, à chaque génération successive ou seulement à des intervalles périodiques. Que l'obstacle à la multiplication s'allège, ou que les causes de destruction diminuent, si peu que ce soit, et l'espèce s'accroîtra presque instantanément en nombre sans limites nécessaires déterminables.

La concurrence vitale préside, en effet, non seulement à la création des espèces, mais encore à leur conservation,

il faut donc s'attendre à la retrouver dans toute la série des êtres organisés.

En bactériologie, ces phénomènes semblent avoir été jusqu'à présent assez peu étudiés ; la littérature scientifique ne possède que quelques travaux où ce mot de concurrence vitale soit mis en vedette et encore ne s'agit-il le plus souvent que de cas particuliers où se manifeste un antagonisme marqué entre des espèces microbiennes déterminées. La question ne semble donc pas encore avoir été traitée à un point de vue général.

Cependant elle n'est pas nouvelle ; lorsque Pasteur et son école reconnurent le rôle prépondérant des microbes dans la genèse des maladies, les explications qu'ils donnèrent sur l'infection et sur la résistance des organismes reposèrent tout d'abord sur la concurrence vitale. Qu'est-ce en effet, que la théorie de Metschnikoff sur la diapédèse des leucocytes et les phénomènes de phagocytose, sinon la concurrence vitale entre les bactéries et les cellules ?

Dans les expériences faites *in vitro* dans les laboratoires on a remarqué depuis longtemps qu'il y a très souvent antagonisme entre des espèces microbiennes différentes. D'habitude l'une se développpe plus rapidement et parvient à étouffer ses voisines ou tout au moins à diminuer et à masquer leur action.

Beaucoup de bactéries exercent donc sur d'autres une action nuisible manifeste. Ce fait d'antagonisme a été signalé en premier lieu par Garré[1] qui, en expérimentant avec les cultures sur milieux solides, avait remarqué que

[1] Garré, Ueber Antagonisten unter Bacterien *(Correspondenzblatt fur Schweitzer Aertze*, XVII, 1887).

le milieu, débarrassé par raclage de la culture, était devenu impropre à la vie d'autres bactéries. Freudenreich[1] fit de nouvelles expériences à ce sujet; pour cela, il prit comme milieu nutritif, du bouillon où il ensemençait une certaine espèce, attendait son développement complet, puis filtrait sur une bougie Chamberland; le liquide stérile lui servait à ensemencer d'autres espèces. Pour beaucoup de ces espèces le développement était nul ou faible, d'autres au contraire ne semblaient pas influencées. A signaler encore les résultats de Soyka qui concordent avec ceux de Freudenreich[2].

Les raisons de cet antagonisme sont nombreuses; on peut, d'après les auteurs, les ranger sous deux chefs, selon qu'elles proviennent du terrain de culture ou des toxines sécrétées par les bactéries elles-mêmes. L'oxygène est indispensable au plus grand nombre : les aérobies; et, si une espèce opère plus rapidement que les autres sa soustraction d'oxygène au milieu, elle les met dans un état d'infériorité marqué et celles-ci périssent. Souvent, une espèce jouissant d'un développement très rapide parvient à former, à la surface du bouillon de culture, un voile continu, privant ainsi d'air les autres bactéries qui disparaissent.

Mais la part la plus grande reviendrait aux toxines fabriquées par telle ou telle espèce microbienne, toxines

[1] Freudenreich, De l'antagonisme des bactéries et de l'immunité qu'il confère aux milieux de culture (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1888).

[2] Soyka, Die Entwickelung von pathogenen Spaltpilzen unter dem wechseleitigen Einfluss ihrer Zersetzungsprodukten (*Forchritt der Medicin*, 1888, p. 769).

qui rendraient très rapidement le milieu défavorable et nuisible pour toutes les autres. Du reste, il arrive souvent, et c'est le cas du bacille typhique[1] que grâce à sa toxine la bactérie se rende le milieu impropre à elle-même.

C'est Guignard et Charrin[2] qui ont mis en lumière l'action des toxines dans la lutte entre les espèces microbiennes en mettant en présence le bacille pyocyanique et la bactéridie charbonneuse. Avant eux Emmerich avait injecté simultanément à des lapins le microbe de l'érysipèle et la bactéridie charbonneuse, les animaux tombaient malades mais se rétablissaient, Emmerich expliquait cet antagonisme par une irritation particulière des tissus sous l'influence du bacille pyocyanique, irritation qui paralysait l'action de la bactéridie charbonneuse.

La conclusion de Charrin, qui s'appuie sur des expériences faites directement sur les microbes eux-mêmes, est que le bacille du pus bleu atténue la bactéridie charbonneuse en sécrétant des produits nuisibles pour elle et en épuisant les milieux nutritifs.

Blagovestchensky[3] a étudié la question en suivant une technique spéciale qui le mettait mieux en mesure de suivre l'évolution des phénomènes : il a injecté les deux microbes dans la chambre antérieure de l'œil de lapins et de cobayes. Il prit ensuite à des intervalles variables quel-

[1] Chantemesse et Vidal, Recherches sur le bacille typhique (*Arch. de Phys.*, 1887).

[2] Guignard et Charrin (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 1887).

[3] Blagovestchensky, Sur l'antagonisme entre les bacilles du charbon et du pus bleu (*Annales de l'Institut Pasteur*, novembre 1890).

ques gouttes de l'humeur aqueuse qui lui servaient à faire des examens microscopiques et des cultures.

Après six heures les bactéridies et les bacilles sont en grand nombre facilement colorables, la phagocytose est abondante.

Après douze heures un grand nombre de bactéridies sont incluses dans les phagocytes, les bacilles du pus bleu sont libres.

Puis à des intervalles plus éloignés les bactéridies se déforment, se flétrissent et se colorent mal; les bacilles sont toujours bien colorés et libres. Après cent quinze heures au maximum il n'y a plus de bactéridies et les bacilles commencent à être inclus dans les phagocytes.

Ici on pourrait faire cette objection que ce n'est pas à proprement parler le bacille pyocyanique qui empêche la bactéridie charbonneuse de se développer, mais bien l'inégale façon dont se comportent les phagocytes vis-à-vis de ces espèces microbiennes; l'une, la bactéridie charbonneuse, était englobée et dévorée de préférence à l'autre.

Mais dans l'expérience suivante la concurrence vitale entre le bacille et la bactéridie apparaît d'une façon très nette :

Dans l'œil d'un lapin, Blagovestchensky introduit un fil de soie chargé de bactéridies charbonneuses et enduit par dessus d'une culture sur gélose de bacilles pyocyaniques. L'examen des fils après vingt-quatre heures montre l'absence de tout bourgeonnement des spores de bactéridies, et pourtant l'on sait que les spores de bactéridies se développent même dans l'œil des animaux réfractaires.

Après avoir établi d'une façon aussi irréfutable l'action directe du bacille du pus bleu sur la bactéridie du char-

bon, Blagovestchensky a dirigé ses recherches sur l'antagonisme de ces bacilles en dehors de l'organisme. Dans ce but il ensemence deux stries perpendiculaires dans des boîtes de Piétri et il remarque qu'au point d'intersection la couche fournie par le bacille du pus bleu est beaucoup plus épaisse. A l'examen microscopique les bactéries sont déformées, mal colorées. Au contraire, elles ont conservé leur forme et leurs dimensions normales dans le reste de la strie. Du reste, lorsqu'on examine les boîtes de culture après cent vingt heures, on ne peut plus trouver de bactéridies que tout à fait au bout des stries.

Voici encore un fait très curieux de concurrence vitale bien mis en évidence par M. le professeur agrégé Roux dans son *Précis d'analyse microbiologique des eaux*[1]; il repose sur l'invariabilité relative du nombre des germes vivants dans une eau suffisamment refroidie. Miquel a démontré que cela tenait, non pas à ce que chaque individu microbien se trouvait en quelque sorte pétrifié pendant un certain temps et incapable de se diviser, mais bien à une sorte de balance qui s'établit entre ce qu'il nomme très pittoresquement les décès et les naissances. Certaines espèces moins aptes à résister à de basses températures périssent, tandis que d'autres, mieux armées, résistent et font souche de nouvelles générations qui remplacent ainsi celles qui disparaissent. C'est ainsi que de l'eau de la prairie des filtres de la ville de Toulouse est conservée pendant quatre jours dans de la glace fondante. Toutes les vingt-quatre heures cette eau qui accuse

[1] Gabriel Roux, *Précis d'analyse microbiologique des eaux*, p. 108, Paris, 1892).

assez fidèlement *le même chiffre moyen de bactéries* fait l'objet d'un double dosage quantitatif vis-à-vis d'un bactérium mobile donnant une coloration violette et d'un bacille fournissant une tache rouge, tous deux liquéfiant rapidement la gélatine. Voici les résultats de ces dosages à la fois qualitatifs et quantitatifs :

	Bactérium violet	Bacille rouge
Dosage immédiat	29	3
24 heures après.	9	16
48 —	2	30
72 —	0	47

Nous venons de voir l'antagonisme entre microbes. On retrouve les mêmes phénomènes lorsqu'on met en présence des microbes et des levures ; ce fait a été signalé par Boinet-Rœser, Charrin, et nous donnons à la fin de ce travail un résumé des expériences faites par Charrin[1].

Il restait à faire l'étude de la concurrence vitale entre ces microbes et les moisissures et c'est M. le professeur agrégé Roux qui en a eu le premier l'idée. En effet, il y a peu de différence entre microbes et moisissures : ces deux espèces végétales ont les mêmes besoins, se développent sur les mêmes milieux et, en fin de compte, leur activité vitale aboutit aux mêmes résultats ; dès lors il parait tout naturel qu'il existe entre elles un antagonisme marqué.

Comme les bactéries les champignons sont ou parasites ou saprophytes; dans le premier cas, ils se développent aux dépens des organismes vivants, animaux ou végétaux, dans le second ils se nourrissent aux dépens des organismes morts et même de la matière inorganique[2].

[1] Cf., page 48.

[2] Roumeguère, *Cryptogamie illustrée*.

Non seulement les champignons se rencontrent sur des morceaux de bois, des végétaux pourris, mais parfois on en trouve même sur des cailloux nus, sur du verre, sur les vitres des fenêtres, les lentilles des microscopes et jusque sur les surfaces polies. Il est cependant permis de supposer que les champignons ne sauraient puiser les éléments de leur alimentation dans ces stations particulières. Les coprins dont la faculté de développement est surprenaute, poussent sur les membres coupés. M. J. Janny a signalé l'apparition d'une grande quantité de coprins au-dessous du matelas sur lequel reposait un irlandais amputé d'une jambe. Le lit fut nettoyé et au bout de neuf ou dix jours le même champignon se montra en aussi grande abondance que la première fois [1].

Comme les bactéries, les moisissures ont un rôle important dans la putréfaction. « Dès que la mort prend possession d'un végétal quelconque, dit Berkeley, une armée de champignons est prête à s'abattre sur sa dépouille pour mener à fin la décomposition. Les tissus mous sont rapidement réduits à l'état d'humus par action combinée de la putréfaction et des champignons et le bois le plus dur cède, quoique plus lentement aux mêmes agents.»

En général les substances organiques d'origine animale, abandonnées à l'air se recouvrent d'abord rapidement de moisissures, les microbes qui se sont développés en même temps que les moisissures pénètrent dans la profondeur des tissus et les désagrègent en se nourrissant à leur dépens.

Le Dr Badham, résume en quelques mots les effets des-

[1] Trouessart, *Microbes, ferments et moisissures.*

tructeurs des champignons microscopiques. Le *Mucor mucedo*, dit-il, dévore nos confitures, l'*Ascophora mucedo* moisit notre pain; le *Molinia* se nourrit aux dépens de nos fruits; le *Mucor herbarium* détruit les herbiers des botanistes et le *Chætonium (Actinospora) chartarum* se développe sur le papier, dans l'intérieur des livres de nos bibliothèques et dans la reliure lorsque ces livres sont en contact avec l'humidité du mur. Quand la bière tourne, et que les cornichons confits aigrissent, c'est le fait d'un champignon.....

En pathologie, les moisissures semblent devoir prendre une place très importante; jusqu'à présent on s'était peu occupé de la question, et, malgré cela, dans ces derniers temps, on a fait des recherches nombreuses et intéressantes sur l'affection occasionnée par une variété d'aspergillus : l'*Aspergillus fumigatus*, qui détermine chez les animaux et chez l'homme une maladie présentant de grandes ressemblances avec la tuberculose: l'aspergillose.

CHAPITRE II

LES MOISISSURES ET L'EAU

Le point de départ de nos recherches personnelles est le fait suivant qui s'appuie sur un grand nombre d'aualyses microbiologiques de l'eau.

L'air tient en suspension, et d'une façon permanente, des germes de toute espèce; et, parmi ces germes, les moisissures représentent un chiffre assez élevé. D'après les recherches du Dr P. Miquel [1], le nombre des spores de moisissures contenues dans un mètre cube d'air varie entre 7.000 (hiver) et 35.000 (été). Faible en janvier et en février, ce nombre diminue eu mars et s'élève eu avril, mais surtout en mai et en juin, mois où a lieu le maximum; la décroissance est lente jusqu'en octobre, s'accentue en novembre, et le minimum s'observe en décembre. De ces quelques données il résulte que l'atmosphère est très riche en spores de moisissures, l'air de nos laboratoires en est infesté et il n'est pas toujours facile de se mettre à l'abri de leur invasion. Or l'eau, et en particulier l'eau utilisée pour la boisson, a été en contact avec cet atmosphère souillée de moisissures, et cependant lorsque l'on

[1] Miquel, *Les organismes vivants de l'atmosphère*, Paris, 1882.

fait des analyses bactériologiques de l'eau, du moment que l'on s'est entouré de tous les soins d'asepsie prescrits par la technique, on ne trouve jamais de moisissures.

Ce fait observé et signalé par M. le professeur agrégé Roux peut être confirmé par tous les bactériologistes ; il repose sur un nombre considérable d'expériences et ne peut être mis en doute. A ce point même que toutes les fois que dans une culture d'eau on trouve des moisissures on peut affirmer d'une façon absolue qu'il y a eu une faute de commise dans le manuel opératoire [1].

Au cours de ce chapitre, nous nous proposons d'éclaircir les points suivants : après avoir démontré que l'eau n'est pas un milieu de culture complètement impropre au développement des moisissures, nous rechercherons pourquoi elles ne s'y trouvent pas. Est-ce d'abord parce que l'atmosphère en contact avec l'eau est moins riche en spores de moisissures ? Faut-il faire intervenir ici la notion de pesanteur qui entraîne les spores au fond ou les oblige à demeurer à la surface ? Le mouvement de la masse liquide a-t-il une influence sur la vitalité des moisissures ? Ou bien encore une trop grande épaisseur de liquide leur est-elle fatale ? Voilà pour les causes physiques :

Les causes chimiques ne peuvent guère être invoquées, car l'eau, dans la nature, j'entends l'eau potable destinée

[1] Récemment encore, M. le professeur agrégé Roux nous citait le fait suivant : chaque matin, il fait une prise d'eau au robinet de la ville pour ensemencer des tubes de gélatine ; pendant quelques jours il chargea de cette opération un garçon du laboratoire et dès lors des moisissures se développèrent dans les tubes de gélatine. Il interrogea le garçon et se rendit compte que ce dernier utilisait pour ses prises d'eau des tubes incomplètement stérilisés.

à notre boissou, n'est ni alcaline ui acide : elle a une réaction neutre. Nous avons cependant recherché l'influence d'un excès d'acide ou d'alcalin.

Enfin à côté des causes physiques et chimiques il faut voir si les organismes inférieurs qui se rencontrent dans l'eau n'ont pas, eux aussi, une influence fâcheuse sur le développement des moisissures.

Et d'abord les moisissures vivent-elles et se reproduisent-elles dans l'eau stérilisée ?

Technique. — Nous avons emprunté la technique de l'analyse bactériologique des eaux. Une culture de *Penicillum glaucum* ayant été ensemencée dans de l'eau stérilisée, nous en avons fait des dilutions au dixième, au centième et au millième. Après avoir préalablement ensemencé sur gélatine 1 centimètre cube de chacune de ces dilutions, uous nous sommes arrêté à celles qui présentaient uu nombre de spores assez restreint, de façon à pouvoir vérifier facilement les variations dans la quantité. Une fois le titre de ces solutions bien connu, nous avons ensemencé régulièrement, chaque jour, 1 centimètre cube de chaque solution dans des tubes de gélatine. Les spores mettaient de cinq à huit jours à se développer et à devenir le centre d'une colonie ; chaque colonie correspondant à une spore, il nous était facile de calculer le nombre de spores contenu dans 1 centimètre cube de nos solutions mères.

Deux causes d'erreur nous ont préoccupé au cours de ces expériences :

1° Les spores des moisissures obéissant à la pesanteur ombent en général au fond du liquide ; il en résulte que

si l'on ne fait pas ses prises d'eau toujours au même niveau, les résultats sont faussés ;

2° A mesure que l'expérience avance, la quantité de liquide va diminuant et, par suite, les chiffres que l'on trouve sont trop élevés.

Pour remédier à la première cause d'erreur, nous avions la précaution, à chaque prise, d'agiter le liquide avant de prélever le centimètre cube. Nous avons pensé nous mettre suffisamment à l'abri de la seconde en prenant un volume d'eau assez considérable.

Voici les résultats que nous avons obtenus :

Expérience 1.

11 mars, ensemencement de *Penicillum glaucum* dans de l'eau stérilisée; tous les jours, une prise d'un 1/2 centimètre cube donne les résultats suivants :

11 mars.	— 12	moisissures
12	— 18	—
13	— 17	—
16	— 19	—
18	— 25	—
20	— 23	—
25	— 35	—
26	— 40	—
30	— 70	—

et très rapidement ensuite les chiffres vont s'élevant.

Expériences 2 et 3.

11 mars, nous avons fait simultanément deux autres expérieuces, dont nous désignerons les résultats par M et M' :

11 mars.	— 50 M	43 M'
13 —	53 —	39 —
16 —	49 —	40 —
18 —	60 —	45 —
20 —	67 —	58 —
27 —	80 —	75 —
30 mars.	— 115 M	118 M'

puis les chiffres s'élevèrent ensuite très rapidement, et il fut impossible de continuer les numérations.

L'eau est donc un milieu favorable au développement des moisissures, puisque non seulement elles y vivent, mais encore qu'elles y prolifèrent.

Cherchons maintenant quels sont les différents agents physiques et chimiques qui peuvent être un obstacle à ce développement.

Et tout d'abord, il paraît intéressant de se demander si l'air en contact avec une masse liquide contient autant de spores de moisissures que l'air en contact avec le sol.

Grâce à l'obligeance de M. le professeur agrégé Roux, il nous a été permis de faire des prises d'air au milieu du Rhône, en aval de son confluent avec la Saône.

Expériences 4, 5 et 6.

Nous avons fait trois prises d'air ; chaque prise était de 20 litres d'air que nous avons fait barboter dans un tube contenant 10 centimètres cubes d'eau.

1 centimètre cube d'une dilution au centième, répartie en plusieurs tubes, nous donne pour chaque prise d'air les résultats suivants :

Prise A. — 1 moisissure et des microbes.
Prise B. — Rien que des microbes.
Prise C. — 2 moisissures et des microbes.

Nous pouvons donc prendre comme moyenne 1 moisissure par centimètre cube ; ce qui nous donne, par une simple règle de trois, 10 moisissures dans 20 litres d'air, soit 5000 par mètre cube d'air. Or, si nous nous reportons aux tableaux donnés par Miquel dans l'*Annuaire de l'Observatoire de Montsouris*, nous trouvons ce chiffre de 5000 un peu inférieur à celui de 7000, que ce savant donne pour le mois de décembre, où il a observé le minimum. Notre expérience ayant été faite le 22 novembre, et après une nuit de pluie qui a pu balayer l'atmosphère, nous ne croyons pas qu'il en faille en déduire que l'atmosphère en contact avec une grande masse liquide soit moins riche en moisissures que l'atmosphère en contact avec le sol.

Une autre cause physique qui pourrait avoir son importance pour expliquer l'absence de moisissures dans l'eau, c'est la pesanteur.

En général, les prises d'eau sont faites à une certaine profondeur, de même que l'eau utilisée pour la cousommation n'est pas prise à la surface des fleuves. Si les spores des moisissures très légères se réfugiaient à cette surface, il n'est rien d'étonnant qu'on n'en puisse trouver soit dans l'eau des prises faites à divers niveaux, soit dans l'eau amenée par la canalisation

Nous nous sommes d'abord assuré qu'une prise d'eau à la surface du Rhône ne coutenait pas de moisissures, puis nous avons fait les trois expériences suivantes :

Nous avons pris trois cristallisoirs d'une contenance de deux litres ; après les avoir soigneusement désinfectés, nous avons mis dans le premier (A) de l'eau stérilisée ensemencée avec des moisissures *(Penicillum glaucum)*; nous l'avons recouvert d'une cloche pour le mettre à l'abri des souillures de l'air ; dans le second (B), nous avons mis de l'eau du robinet de la Compagnie, additionnée également d'une culture de *Penicillum glaucum;* dans le troisième (C), nous n'avons mis que de l'eau de la Compagnie et nous l'avons laissée en contact avec l'air du laboratoire.

Dans ces conditions, voici les résultats obtenus :

EXPÉRIENCE 7 (cristallisoir A)

8 novembre.	— Surface,	18 moisis.	— Fond 13 moisis.
9 —	—	20 —	— 25 —
10 —	—	19 —	— 23 —
11 —	—	16 —	— 17 —
12 —	—	17 —	— 15 —
15 —	—	21 —	— 26 —
18 —	—	12 —	— 16 —
27 —	—	4 —	— 26 —

Expérience 8 (cristallisoir B)

8 novembre (jour de l'ensemencement) 15 microbes et 25 moisissures.

	Surface		Fond	
9 nov. —	60 mic.	16 moissis. —	34 mic.	8 moissis.
11 —	150 —	5 —	97 —	pas de mois.

12 novembre et jours suivants, à la surface comme au fond, des quantités de microbes et plus de moisissures.

Expérience 9 (cristallisoir C)

Ici le liquide n'a pas été préalablement ensemencé de moisissures, il est au contact de l'air de la pièce, et, l'analyse de cet air donne environ 15.000 spores de moisissures par mètre cube.

8 novembre. —	4 microbes. —	pas de moisissures.
9 —	16 —	—
10 —	18 —	—
11 —	23 —	—
12 —	31 —	—

L'interprétation de ces faits nous a suggéré les réflexions suivantes :

Les spores des *moisissures* sont pesantes et semblent tomber au fond de l'eau. Est-ce leur propre poids, est-ce le mycelium qui les entraîne. Il est probable que c'est l'un et l'autre.

Lorsque les moisissures sont dans de l'eau privée de microbes, elles vivent plus longtemps (expér. A) que lorsqu'elles sont dans une eau polluée par des bactéries (expér. B); néanmoins elles finissent par disparaître lorsque l'on opère sur une masse liquide assez importante. Il est probable qu'une trop grande épaisseur de liquide leur est nuisible.

Il semble, en comparant les résultats des expériences B et C, que la présence de moisissures dans l'eau influe jusqu'à un certain point sur le développement des bactéries; c'est ainsi que les numérations donnent des chiffres beaucoup plus élevés pour B que pour C, et cependant l'eau employée est la même; mais, dans l'expérience B, nous avions ensemencé des moisissures tandis que dans C il n'y en avait pas.

Enfin dans le dernier cristallisoir C, qui était exposé à l'atmosphère du laboratoire, il ne s'est pas développé de moisissures, bien que cette atmosphère en contînt.

Après avoir étudié l'influence de la pesanteur, il est un autre facteur qu'il faut considérer, puisqu'il se trouve réalisé dans la nature : c'est le mouvement auquel est soumise la masse liquide.

L'expérience présentait de réelles difficultés pour être pratiquée dans un laboratoire; nous avons pensé nous rapprocher le plus possible des conditions réalisées dans la nature en l'instituant ainsi qu'il suit :

Dans un large tube à essai nous avons mis 100 centimètres cubes d'eau ensemencée avec une culture de *Penicillum glaucum*, et au moyen d'une trompe à eau nous avons fait barboter nuit et jour de l'air; cet air se trouvait filtré par un tampon d'ouate. Ainsi se trouvaient

réalisées deux conditions naturelles : non seulement le mouvement de l'eau, mais encore la présence à la surface de cette eau d'un air constamment renouvelé.

Voici les résultats de cette expérience.

Expérience 10.

6 mai (date de l'ensemencement), l'eau contenait	18 moisiss. par c. c.
7 —	20 — . . —
8 —	17 — . . —
9 —	16 — . . —
10 —	18 — . . . —

Les chiffres avaient donc très peu varié ; il nous fut impossible de continuer plus longtemps, car le courant d'air avait amené une très rapide évaporation du liquide. Ce fait même que, bien que la quantité d'eau fût très sensiblement diminuée chaque jour, le nombre de moisissures restât à peu près constant, prouve bien que ces dernières ne se trouvaient pas dans de bonnes conditions d'existence, en effet, le dernier centimètre cube contenait à peu près autant de spores qu'un centimètre cube du mélange initial lequel en contenait cent fois plus.

Il résulte donc que le mouvement est une cause défavorable pour le développement des moisissures.

Nous venons de voir l'influence des différents agents physiques, cherchons maintenant si la composition chimique des eaux n'a pas une importance notable sur le développement des moisissnres.

De prime abord, rien ne semble plus certain d'après toutes les recherches faites par nos devanciers, et nos expériences n'ont fait que les confirmer. Mais les conditions d'alcalinité et d'acidité n'ont pas une grande importance ici puisque l'eau dans la nature a en général une réaction alcaline.

Nous venons d'envisager successivement les différentes causes qui pourraient être capables de s'opposer à la végétation des moisissures dans l'eau. Il résulte des expériences pratiquées par nous et dont nous venons de publier les résultats que les moisissures ne trouvent pas dans la nature des conditions très favorables à leur développement dans l'eau. Deux de ces conditions paraissent particulièrement défectueuses : c'est la trop grande masse d'eau (et probablement la trop grande épaisseur), d'une part, et d'autre part le mouvement de la masse liquide.

A ces deux facteurs il faut en ajouter un troisième qui a pour nous une importance capitale, à savoir : l'antagonisme biologique réel qui peut exister entre les bactéries et les moisissures. Ce sera le sujet du chapitre suivant.

CHAPITRE III

ANTAGONISME BIOLOGIQUE ENTRE LES MOISISSURES ET LES MICROBES ACTION DÉFAVORABLE DES MICROBES SUR LE DÉVELOPPEMENT DES MOISISSURES

En interprétant les résultats des expériences 7, 8 et 9, nous avons fait remarquer que dans l'un des cristallisoirs où les moisissures se trouvaient ensemencées dans de l'eau stérilisée, le nombre de ces moisissures diminuait beaucoup plus lentement que dans un autre cristallisoir où nous avions employé de l'eau ordinaire (eau du robinet de la Compagnie); dans ce dernier, au contraire, les moisissures avaient très rapidement disparu.

Nous nous sommes proposé les recherches suivantes : 1° confirmer ces dernières expériences par de nouvelles faites avec de l'eau plus ou moins souillée de microbes; 2° voir s'il ne fallait pas prendre en considération que les moisissures, si elles sont mieux adaptées au milieu par une culture préalable, peuvent résister à l'action des microbes. Pour cela, nous avons commencé par cultiver des moisissures dans l'eau, et une fois qu'elles nous ont paru assez vigoureuses, nous les avons mis en présence de bactéries; 3° utiliser pour ces recherches différents milieux : l'un, très favorable au développement des deux

espèces : le bouillon ; le second, de l'eau stérilisée ; le troisième, enfin, de l'eau distillée et stérilisée, c'est-à-dire de l'eau privée de la majeure partie de ses sels ; 4° recherches dans la nature des faits qui auraient pu faire prévoir une pareille concurrence et les vérifier si possible par quelques expériences.

L'eau stérilisée ensemencée avec des moisissures est pour ces dernières un milieu de culture suffisant, ainsi que le prouvent les expérience 1, 2 et 3.

Nous avons fait les mêmes recherches pour l'eau ordinaire telle qu'on la trouve dans la nature.

Expérience 13.

Eau du robinet de la Compagnie ensemencée le 29 avril 1896, avec une culture de *Penicillum glaucum :* une numération faite le jour même de l'ensemencement donnait 4 microbes et 53 moisissures.

30 avril. — 15 microbes et 50 moisissures.

2 mai. — 60 microbes et 17 moisissures.

5 mai. — Nous sommes obligé de faire deux dilutions : l'une au dixième où nous ne trouvons que des microbes ; l'autre au centième où nous trouvons des microbes et uue moisissure.

Très rapidement le nombre des moisissures a diminué pour disparaître à mesure que celui des microbes augmentait considérablement.

Expérience 14.

Eau d'une fontaine publique ensemencée le 12 mai avec la même culture de *Penicillum glaucum :*

12 mai. — 16 microbes, 63 moisissures.
14 mai. — 170 — 5 —
17 mai. — Plus de moisissures.

Dans cette expérieuce l'eau se trouvait naturellement plus riche en bactéries et les moisissures ont disparu complètement dès le cinquième jour.

Il est permis de se demander si la cause de la disparition des moisissures n'est pas due à ce fait, qu'elles se trouvent placées tout d'abord dans un milieu très défavorable : de l'eau microbienne. Peut-être que, si les moisissures étaient accoutumées au milieu avant d'être mises en présence des microbes, elles résisteraient davantage.

Expérience 15.

Nous avons ensemencé dans un ballon contenaut 50 centimètres cubes de bouillon des spores de *Penicillum glaucum;* le 17 novembre, deux jours après l'ensemencement, à la surface du bouillon se développèrent des colonies de *Penicillum glaucum* qui arrivèrent très rapidement à leur pleine maturité. Après huit jours de culture dans le bouillon, nous avons ensemmencé 1 centimètre cube d'une culture très virul-nte du bacille d'Eberth. Un centimètre cube du mélange prélevé chaque

jour et dilué au centième nous a donné les résultats suivants :

	Dilution au 10e.	Dilution au 100e.
28 mai.	— Beaucoup de micr. 26 M.	Micr. 10 M.
29 mai.	— Micr. en gr. quantit. 0 M.	Micr. 3 M.

30 mai.
1er juin.
2 juin.
3 juin.
} A partir du 30 mai, on ne trouve plus exclusivement que des microbes dont l'activité vitale semble augmentée.

Dans l'expérience précédente, nous avions affaire à un milieu de culture très favorable aux moisissures. Voyons si les résultats seront les mêmes en employant des milieux moins riches en substances nutritives.

Expériences 16, 17 et 18

(Essai avec de l'eau stérilisée)

29 avril 1896. — Nous ensemençons dans trois tubes A, B, C, contenant de l'eau stérilisée, des spores de *Penicillum glaucum*. Un demi-centimètre cube fut prélevé chaque jour dans ces tubes, ce qui nous donna les résultats suivants :

	Tube A	Tube B	Tube C
29 avril. —	24	43	47
30 avril. —	32	66	61
2 mai. —	49	79	87
6 mai. —	70	112	104

6 mai. — Nous ajoutons aux tubes A et B 1 centimètre cube de culture de bacille d'Eberth et au tube C 1 centimètre cube de *Bacterium coli communis* et nous continuons à prélever chaque jour un demi-centimètre cube.

	Tube A	Tube B	Tube C
6 mai. —	68	114	99
7 mai. —	16	21	18
8 mai. —	—	10	—
9 mai. —	—	—	—
13 mai. —	—	—	—

A partir du 8 mai, dans les tubes A et C, il n'y a plus de moisissures ; par contre, le nombre des microbes est tel qu'il nous a été impossible de les compter.

D'après ces expériences, on voit que la lutte n'a pas été longue et que très rapidement les moisissures ont été détruites. Il en a été de même dans l'expérience suivante, qui a été faite avec de l'eau distillée stérilisée.

Expérience 19.

Trois tubes d'eau distillée et stérilisée ont été ensemencés avec une culture de *Penicillum glaucum*. Seulement, une faute dans le manuel opératoire nous a donné un tube (tube A) souillé de microbes, aussi dès la première analyse quantitative, nous n'avons plus trouvé de moisissures.

Pour les deux autres tubes B et C, nous avons noté les résultats suivants :

	Tube B	Tube C
9 novembre. —	6	13
10 novembre. —	20	24
11 uovembre. —	13	27
12 novembre. —	42	58
21 novembre. —	113	85
27 novembre. —	190	—

Il suffit d'ajouter à chaque tube 1 centimètre cube de culture bactérienne, bacille d'Eberth pour le tube B et *Bacterium coli communis* pour le tube C, pour que les moisissures disparaissent complètement.

Toutes ces expériences aboutissent aux mêmes résultats : la présence de bactéries dans un milieu où l'ou cultive des moisissures est pour ces dernières une cause de destruction rapide, quand bien même ces moisissures auraient eu le temps de s'accoutumer au milieu nutritif avant l'apport de microbes.

Ces résultats étaient faciles à prévoir en réfléchissant que l'ou trouve généralement les moisissures sur des milieux où les microbes ne se développeut pas normalement.

C'est ainsi, par exemple, que le vin et les bouchons de bouteilles contenant du vin sont recouverts de moisissures, tandis que les microbes ne trouvent pas là un milieu favorable pour leur nutrition.

Au cours d'expériences tendant à rechercher la persistance des germes pathogènes sur les bouchons, nous avons eu l'occasion d'observer quelques faits qui apportent une preuve de plus à l'appui de notre thèse.

Expériences 20.

Un centimètre cube de vin récemment mis en bouteille, fut ensemencé dans un tube de gélatine, et ne donna naissance à aucune colonie tant moisissure que microbe. Après quelques jours une mince pellicule de moisissure se développe à la surface du liquide; nous ajoutons quelques centimètres cubes de culture de bacille fluorescent; très rapidement les moisissures disparaissent et un essai quantitatif fait deux mois après indique l'absence complète de moissisure; nous ne retrouvons que quelques microbes.

Si des expériences étaient pratiquées dans ce sens, peut-être pourrait-on mettre certaines substances alimentaires à l'abri des atteintes des moisissures par l'injection de cultures microbiennes inoffensives.

En résumé, la lutte pour la vie entre les moisissures et les bactéries semble tourner au profit de ces dernières. N'y a-t-il pas des cas où les moisissures peuvent triompher et, sinon tuer les bactéries, du moins paralyser certains de leurs effets nocifs?

Dans toutes les expériences qui précèdent, ce que nous constatons, c'est le résultat brutal de la lutte ; les moisissures disparaissent; mais rien ne dit qu'avant de périr elles n'aient pas porté une atteinte quelconque à la virulence des microbes et peut-être à leurs propriétés pathogènes.

Dans le but de voir si en effet il en résultait une diminution dans la virulence des microbes, nous avons inoculé à des cobayes, des cultures de microbes pathogènes, simultanément avec des cultures de moisissures.

L'essai de la culture a été fait sur deux cobayes témoins.

25 novembre au soir, un cobaye pesant 480 grammes est inoculé avec deux centimètres cubes d'une culture de *Bacterium coli* devenue très virulente; il est mort dans la nuit.

Le même jour un autre cobaye inoculé avec de l'Eberth meurt également en vingt-quatre heures.

EXPÉRIENCE 21.

1er décembre, nous inoculons un cobaye de 800 grammes qui reçoit dans le péritoine deux centimètres cubes d'un mélange de la même culture de coli et de culture de moisissure (*Penicillum glaucum*) dans du bouillon stérilisé. On prend régulièrement matin et soir sa température.

1er décembre. — Matin 38°2 (inocnlation).
— Soir 37°1.
2 décembre. — Matin 38°6.
— Soir 38°8.
3 décembre. — Matin 38°5.
— Soir 38°6.
4 décembre. — Matio 38°7.

Comme on le voit, le soir de l'inoculation il y a une réaction hypothermique, l'animal n'a pas mangé et a paru sérieusement atteint, puis il a repris très rapidement sa vie habituelle ne paraissant pas se ressentir davantage de son inoculation.

Le 4 décembre, au matin, nous lui avons injecté quatre centimètres cubes de mélange.

La température suit la courbe suivante :

4 décembre. — Soir 38 degrés.
5 décembre. — Matin 38°1.
6 décembre. — Matin 38°4.

Il ne paraît aucunement influencé par cette seconde piqûre.

Expérience 22.

Nous avons répété la même expérience avec du bacille d'Eberth, la culture avait été démontrée virulente par un essai antérieur.

2 décembre, un cobaye de 790 grammes reçoit dans le péritoine deux centimètres cubes d'un mélauge d'une culture de bacille d'Eberth et d'une culture de *Penicillum glaucum*.

Sa température nous donne les chiffres suivants :

2 décembre. — Matin 38°4 (inoculation).
— Soir 38°9.
3 décembre. — Matin 38°7.
— Soir 38°6.
4 décembre. — Matin 38°5.

Le 4 décembre, nous lui faisons une seconde piqûre de 4 centimètres cubes.

4 décembre. — Soir 37°4.
5 décembre. — Matin 38 degrés.
6 décembre. — Matin 38°6.

Son état général est excellent.

Il nous a été malheureusement impossible de poursuivre plus loin ces expériences. Les cultures avaient été mélangées au moment même de l'injection. Il faudrait faire des injections avec un mélange de culture fait depuis quelques jours. Et il faudrait ensuite voir si l'animal est immunisé en lui injectant des cultures microbiennes pures.

CHAPITRE IV

MÉCANISME DE LA CONCURRENCE VITALE ENTRE BACTÉRIES ET MOISISSURES

D'où peut venir cette concurrence vitale entre les champignons et les bactéries? Est-ce que les produits toxiques fabriqués par les microbes sont un poison pour les moisissures ou bien les conditions d'existence pour ces deux espèces végétales si semblables sur bien des points, diffèrent-elles en d'autres au point que, selon les cas, telle ou telle espèce l'emportera?

CONDITIONS VITALES DES MOISISSURES[1]

Lorsqu'on fait l'analyse chimique des moisissures comme l'a faite Sieber[2], on constate la prédominance des substances ne renfermant pas d'azote. Ceci résulte tout

[1] Flügge, *Les Microorganismes.*

[2] Sieber, *Journ. f. prakt. Chemie*, 23, 412.

Voici les chiffres qu'il donne ponr nne cultnre de penicillum et de mucus faite sur un snbstratum nntritif contenant du sucre et de la gélatine :

Substances solubles dans l'éther	= 18,7	0/0 de la	snbst. sèche.
— . — l'alcool	= 6,9	—	—
Cendres	= 4,9	—	—
Albnmine	= 29,9	—	—
Cellulose	= 39,6	—	—

d'abord de ce que, chez les moisissures, il existe de la cellulose très développée. C'est seulement à l'intérieur de la cellule que l'on trouve des matières albuminoïdes ; enfin, on rencontre également des quantités appréciables de matières sucrées. Étant donnée la composition chimique, il faudra, pour former et pour conserver les éléments constituants des moisissures, de grandes quantités d'eau, des substances organiques contenant du carbone et de la soude, et les éléments des cendres, principalement de la potasse et de l'acide phosphorique. Et Naegli[1] est arrivé à établir l'échelle suivante où les substances nutritives sont placées par ordre de valeur, les premières étant les meilleures :

1° Albumine (peptone) et sucre ;

2° Leucine et sucre ;

3° Tartrate ammonique (ou chlorure ammonique) et sucre ;

4° Albumine (peptone) ;

5° Leucine ;

6° Tartrate ammonique, succinate d'ammoniaque, asparagine ;

7° Acétate ammonique.

L'eau et les substances minérales jouent un rôle très important dans la nutrition des moisissures. De grandes quantités d'eau sont nécessaires à cette nutrition ; elle entre en grande quantité dans les composés complexes formés par les champignons ; elle constitue la partie principale des éléments de nouvelle formation ; enfin, elle sert de dissolvant et de véhicule aux substances cellulaires comme dans les organismes supérieurs.

[1] Nægli, *Untersuchungen über niedere Pilze*, Munich, 1882.

Outre ces substances solides et liquides, les moisissures ont besoin, pour leur développement normal, d'oxygène à l'état gazeux. Ce besoin d'oxygène est confirmé par la façon dont les moisissures se présentent et par leur développement borné aux endroits où elles sont en contact avec l'oxygène libre. Nous les voyons en effet se développer exclusivement à la surface des liquides (comme du reste à la surface des corps solides) et elles ne se développent à l'intérieur des liquides qu'autant que la quantité d'oxygène dissoute est suffisante.

La réaction du mélange nutritif présente une action capitale sur le développement des moisissures. Les milieux alcalins sont peu favorables, tandis qu'un excès d'acidité paraît avoir beaucoup moins d'influence. D'autres facteurs, comme la pression atmosphérique, la lumière, l'électricité même doivent certainement entrer en ligne de compte, mais leur rôle n'est pas encore étudié. La température enfin varie selon les espèces, mais une température moyenne de 15 à 20 degrés est en général la plus favorable.

CONDITIONS VITALES DES BACTÉRIES

En général, les substances nutritives favorables aux bactéries et leurs conditions vitales ressemblent à celles des moisissures. Les bactéries tirent surtout la soude dont elles ont besoin des albumines diffusibles; les autres composés azotés semblent à peu près se classer comme pour les moisissures. Pour les microbes, la teneur en eau doit en général être assez élevée, tandis que les levures et surtout les moisissures peuvent se développer sur un

terrain beaucoup *moins humide*. Un excès d'acide ou d'alcali agit d'une façon défavorable sur les bactéries, mais c'est surtout un excès d'acide qui leur est fatal.

Comme nous venons de le voir, les conditions vitales sont à peu près les mêmes pour les bactéries et les moisissures. Nous allons rechercher les différentes causes qui donnent la victoire à l'une ou à l'autre espèce. Nous rangerons ces causes sous trois chefs différents : 1° Conditions résultant du milieu de culture; 2° Conditions dépendant de la résistance vitale et de la rapidité de la reproduction; 3° Nous étudierons la question intéressante de savoir si les produits toxiques fabriqués par les microbes sont un poison pour les moisissures et s'opposent à leur développement.

Les milieux de culture propres aux moisissures conviennent en général aux bactéries; cependant il est certaines conditions qui favorisent les unes au détriment des autres.

La concentration du milieu nutritif peut subir de grandes fluctuations sans qu'il se produise de modification dans la croissance du champignon; les moisissures présentent à ce point de vue une bien moins grande sensibilité que les bactéries.

Réciproquement certaines moisissures se développent encore dans les solutions nutritives les plus diluées ne contenant que des traces de substances nutritives; c'est ainsi que nous avons vu le *Penicillum glaucum* vivre et proliférer dans de l'eau stérilisée et distillée c'est-à-dire privée de la majeure partie de ses sels.

Des mélanges nutritifs auxquels on a enlevé une forte proportion soit par vaporisation, addition de sel ou de

sucre se trouvent rendus impropres à la uutrition des levures et des bacilles et sont encore très suffisants pour les moisissures. Dans la conservation des aliments on a observé par exemple que la viande fumée ou la viande salée qui contiennent 50 pour 100 d'eau ne constituent plus un milieu favorable au développement des bactéries mais qu'elles peuvent encore se couvrir de moisissures. La formation de celles-ci ne paraît être arrêtée que lorsque la teneur en eau est de 10 à 12 pour 100 environ.

La réaction du mélange nutritif a une influence très grande sur le développement des organismes inférieurs; les bactéries vivent de préférence sur les milieux neutres ou légèrement alcalins, seules quelques espèces vivent en milieu acide (bacille butyricus, ferment acétique). Les moisissures se développent très bien sur des millieux acides c'est aiusi qu'on en voit se former dans les solutions d'acide tartrique.

La présence de gaz oxygène est d'une importance capitale pour la nutrition des microbes aérobies. Elle est aussi indispensable à l'existence des moisissures; il en résulte que, si les premières s'emparent plus rapidement de l'oxygène des milieux nutritifs, les moisissures se trouvent dans un état d'infériorité.

A côté de ces raisons qui tiennent au milieu nutritif, à sa nature et à sa composition chimique. Il est des conditions qui proviennent de la nature même des espèces.

La formation de spores chez les moisissures appartient d'une façon absolue à la vie du champignon et la formation de mycelium sans fructification ne peut-être envisagée comme un développement normal et parfait. La multiplication se fait relativement assez lentement, car il fau t

attendre la formation d'un mycelium pour que puisssent se former des spores.

Les microbes possèdent deux modes de reproduction : indépendamment de la reproduction par spores comme les moisissures, laquelle ne s'opère que dans des circonstances très strictes, très limitées et qui ne sont pas toujours réalisées; ils peuvent pulluler par *scissiparité* ou *bipartition*. Ce mode de reproduction n'existe pas chez les moisissures, tandis que, chez les microbes, il s'exerce constamment sans trève ni repos dans tous les milieux et dans toutes les circonstances puisqu'il est l'aboutissant fatal de l'évolution de la cellule microbienne arrivée à l'état adulte.

Cette victoire des bactéries sur les moisissures est en somme un exemple de la supériorité de gros bataillons se renouvelant sans cesse sur une armée qui, considérable au début, manquerait de troupes de réserves et ne pourrait réparer ses pertes. Ce genre de concurrence est encore analogue à celle de deux peuples ayant à peu près mêmes besoins, mêmes mœurs, une vie moyenne identique, mais dont l'un serait très prolifique tandis que l'autre verrait sa natalité diminuer de plus en plus; il est évident que le premier finira par l'emporter et cela sans même avoir besoin de recourir à la ruse ou à la guerre (dans l'espèce, les toxines microbiennes [1]).

Un fait important aussi, que nous a signalé M. le professeur agrégé Roux : les moisissures sont privées de

[1] Si l'on part d'un seul schizomycète et si l'on admet que chaque individu emploie une heure pour se développer et se diviser, après un jour, de ce seul organisme seront sortis environ 16 millions ; dans le jour suivant leur nombre se chiffrera par billions.

mouvement, tandis que la majorité des microbes sont mobiles tout au moins à un moment de leur existence : ceci est encore une condition favorable pour les microbes, condition leur facilitant l'extension et par suite un envahissement plus rapide des milieux.

C'est seulement lorsque certaines conditions du milieu nutritif exercent une influence directement défavorable sur le développement des schizomycètes et permettent aux champignons des autres classes de se développer librement qu'il est permis à ces derniers d'envahir le milieu et de supplanter les schizomycètes.

Nous venons de voir que dans la lutte pour la vie entre les moisissures et les microbes, il y avait lieu de considérer deux faits importants. La victoire appartient à l'espèce pour lequel le terrain nutritif est le plus favorable ; elle appartient à celle qui se reproduit le plus rapidement et qui présente une plus grande résistance vitale.

De très nombreuses expériences, et entre autres celles de Roux et Yersin, sur le bacille de la diphtérie ont mis en lumière ce fait que les bactéries sécrètent des produits toxiques. Ces produits toxiques n'auraient-ils pas une influence dans la lutte entre les moisissures et les bactéries ? Nous avons vu (chapitre 1er) que, dans l'antagonisme qui existe entre les bacilles du pus bleu et la bactéridie charbonneuse, ce sont les toxines de la première espèce microbienne qui ont tué la seconde ; en est-il de même pour les moisissures ?

A ce propos, d'Arsonval et Charrin ont fait des expériences très intéressantes qui concordent parfaitement avec celles que nous avons nous-même instituées dans le

même but : ces deux savants ont voulu se rendre compte des conditions dans lesquelles le bacille pyocyanique pouvait empêcher la fermentation de la levure de bière.

Dans un premier tube à essai contenant de l'eau sucrée, ils ensemencent de la levure de bière ; le résultat se produit très rapidement, c'est la transformation du sucre en alcool.

Dans un second tube réalisant les mêmes conditions expérimentales, ils ajoutent une culture de bacille pyocyanique ; la fermentation ne se produit plus : le bacille peut donc empêcher le développement de la levure de bière, ou tout au moins son action pymogène.

Mais comment se produit cet antagonisme ? le microbe agit-il par sa toxine, par son protoplasme même mort, ou par son activité vitale plus considérable que celle de la levure ?

A cet effet, dans un tube d'eau sucrée ensemencée de levure de bière, on met une culture de bacille pyocyanique que l'on a stérilisée par l'acide carbonique, la bactérie est tuée; seuls, restent son protoplasme mort et sa toxine. Dans ces conditions, la fermentation se fait, et plus rapidement même que dans le tube témoin (1).

Reste à voir quelle sera l'action de la toxine seule ? Pour cela, il suffit de filtrer la culture de bacille pyocyanique et de l'ajouter au ferment. Là encore nous avons une fermentation plus hâtive que dans le tube témoin.

C'est donc bien, concluent les deux expérimentateurs, le bacille pyocyanique seul, en qualité d'être vivant, qui entraîne la fermentation, puisque son protoplasma, privé de vie, et sa toxine, loin de l'entraver, l'activent. Nous sommes donc là en présence d'une véritable concurrence vitale.

Ici prennent place quatre expériences faites par nous.

Dans un ballon de bouillon stérilisé, nous avons ensemencé différentes espèces microbiennes : nous les avons laissé végéter, puis nous les avons mis en présence de cultures de moisissures également bien développées.

Expérience 23.

Dans un ballon de bouillon stérilisé, dans lequel a végété pendant 15 jours une culture de bacille fluorescent, nous mettons la même quantité d'une culture de moisissures du même âge et placée dans les mêmes conditions.

Chaque jour nous prélevons un demi-centimètre cube du mélange que nous diluons au centième ; nous constatons que très rapidement disparaissent les moisissures; dès le surlendemain il n'y en a plus.

Expérience 24.

Nous reproduisons ces expériences pour le *bacille d'Eberth* et le *bacterium coli*, et nous obtenons les mêmes résultats.

La moisissure est donc tuée par les microbes ; cherchons l'influence de la toxine.

Expérience 25.

Une culture de bacilles fluorescents dans du bouillon, vieille de quinze jours, est *stérilisée* par la chaleur ; un

examen quantitatif nous prouve l'absence complète de bactéries. Nous l'ensemençons avec du *Penicillcum glaucum*.

7 novembre.	— 118	moisissures.
8 —	92	—
9 —	46	—
10 —	50	—
11 —	20	—
12 —	13	—
16 —	3	—
18 —	0	—
21 —	1	—
27 —	0	—
29 —	0	—

A partir du 21 novembre il n'existe donc plus de moisissure dans le bouillon : ce n'est pas la toxine qui a tué la moisissure puisqu'elle a vécu dans le milieu nutritif plus de quinze jours, c'est probablement que ce terrain de culture est épuisé; aussi, dès le 17, en voyant tomber très rapidement le nombre des moisissures, nous avions pris la moitié du bouillon et à cette moitié, sans y faire de nouvel ensemencement, nons avions ajouté du bouillon neuf stérilisé. Trois jours après, le 21, nous avions six moisissures par centimètre cube et le nombre est allé en augmentant. C'était donc bien le défaut de nourriture qui avait détruit les moisissures. Cette expérience nous l'avons entreprise également avec le *Bacterium coli communis* et avec le *bacille d'Eberth*.

Nos résultats concordent donc avec ceux de Charrin et

de d'Arsonval. L'antagonisme existe d'une façon très nette entre les moisissures et les microbes; la victoire appartient le plus souvent aux bactéries, non parce que ces dernières sont favorisées par leurs toxines, mais parce qu'elles ont une activité vitale, végétative et reproductrice, beaucoup plus grande que les moisissures et qu'elles s'approprient très rapidement les substances nutritives au détriment des moisissures.

Nous nous étions proposé, dans un dernier chapitre, de rechercher de quelles applications était susceptible la concurrence vitale entre bactéries et moisissures. L'hygiène et la thérapeutique pourraient peut-être en retirer quelque profit. N'a-t-on pas lu il y a quelques années dans une note parue dans le *Bulletin de la Société de biologie* que les Drs de Backer et J. Brubat[1] préconisent une nouvelle méthode de traitement des maladies infectieuses de nature microbienne par l'emploi des ferments figurés?

Les auteurs rapportent deux observations de diphtérie inoculée dans l'oreille d'un lapin, et guérie par cette méthode.

D'après eux certains mycodermes injectés en solutions agissent au contact des microbes absolument comme le font les leucocytes, c'est-à-dire en englobant et digérant comme eux les parasites envahisseurs.

Enfin, de même que dans ces derniers temps on a publié des faits très intéressants d'association microbienne, il y aurait peut-être lieu de rechercher s'il n'existe pas de pareilles associations entre les moisissures et de celles-ci avec les bactéries pouvant intéresser soit le médecin, soit l'hygiéniste.

[1] De Backer et Bruhat, *Comptes rendus hebdomadaires de la Société de biologie*, mars 1893.

CONCLUSIONS

I. Les *moisissures* (mucédinées) ne se développent pas, ou disparaissent, tout au moins, très hâtivement dans l'eau, sous un certain volume, et cela pour les principales raisons suivantes : *a)* l'exagération même de l'humidité ; *b)* le mouvement de la masse liquide ; *c)* enfin et surtout le résultat de la concurrence vitale.

II. Il existe, en effet, un antagonisme très marqué et incontestable entre les *moisissures* et les *bactéries* qui ont été simultanément semées dans l'eau ou dans un liquide nutritif quelconque, et cet antagonisme tourne le plus souvent au profit des *bactéries* en ce qui concerne, tout tout au moins, les processus de vitalité et de végétalité.

III. Si les *microbes* l'emportent ainsi presque constamment sur les *moisissures*, dans la lutte pour la vie, c'est par suite d'une plus grande résistance vitale et surtout d'une pullulation infiniment plus rapide due, elle-même, au phénomène de la *bipartition* ou *scissiparité*. Mais il ne semble pas que les *toxines microbiennes* soient appelées à jouer un rôle actif dans cette lutte et dans ses résultats.

IV. *Les Moisissures*, cependant, peuvent parfois voir cette lutte tourner à leur profit lorsque le milieu de culture leur est, par sa réaction, plus nettement favorable qu'aux bactéries, qu'elles ne s'y trouvent pas absolument submergées et qu'elles sont enfin, initialement, en proportion vraiment très prépondérante.

V. Il semble, d'antre part, résulter de quelques-unes de nos expériences, malheureusement trop peu nombreuses et qu'il importera de répéter à nonveau et de contrôler, que certaines *moisissures (Penicillum glaucum)*, inoculées à un animal en même temps que des cultures très virulentes de quelqnes *microbes pathogènes (B. coli* et *B. typhosus* d'Eberth), sont capables d'atténuer dans de très notables proportions la virulence de ces cultures bactériennes.

VI. On peut donc espérer qu'en poursuivant l'étude des faits de *concurrence biologique* entre *moisissures* et *microbes*, étude seulement ébauchée par nous et à laquelle nous n'avons d'autre prétention qne d'avoir apporté ici une très modeste contribution, on arrivera, peut-être, à la découverte d'autres faits directement utiles et applicables à l'hygiène prophylactique et à la thérapeutique.

LE PRÉSIDENT DE THÈSE,
LEPINE

Vu : POUR LE DOYEN,
L'ASSESSEUR,
LÉPINE

Permis d'imprimer :
LE RECTEUR,
G. COMPAYRÉ

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

Chantemesse et Vidal, Recherches sur le bacille typhique (Arch. de physiologie, 1887).

Blagovestchensky, Sur l'antagonisme entre les bacilles du charbon et du pus bleu (Annales de l'Institut Pasteur, novembre 1890).

Charrin et Guignard, Comptes rendus de l'Académie des sciences, 1887.

De Backer et Brubat, Comptes rendus hebdomadaires de la Société de Biologie, mars 1893.

D'Arsonval et Charrin, Concurrence vitale entre le bacille pyocyanique et la levure de bière (Société de biologie, 21 janvier, 4 février, 4 mars, 25 mars 1893).

Charrin, La concurrence vitale en bactériologie (Semaine médicale, 2 mars 1892).

Roumegnère, Cryptogamie illustrée.

Gabriel Roux, Précis d'analyse microbiologique des eaux, p. 108, Paris, 1892.

Miquel, Des organismes microscopiques de l'air de la mer (Sem. méd., p. 9, mars 1884).

Miquel, Moisissures et bactéries atmosphériques (Annuaire de Montsouris, pour 1884, p. 458, Paris, 1885).

Trouessart, Microbes, ferments et moisissures.

Sieber, Journal f. prakt. Chimie, 23, 412.

Miquel, Les organismes vivants et l'atmosphère, Paris, 1882.

Garré, Ueber Antagonisten unter Bacterien (Correspondenzblatt für Schweitziger Aertze, XVII, 1887).

Freudenreiche, De l'antagonisme des bactéries et de l'immunité qu'il confère aux milieux de culture (Ann. de l'Institut Pasteur, 1888).

Soyka, Die Entwicklung von pathogenen Spaltpilzen unter dem wechseleitigen Einfluns ibrer zersetzungsprodnckte (Forcbritts der Medicin, p. 769, 1888.

Fazio, Concurrence vitale entre les bacteries de la putréfaction et celle du charbon et de la fièvre typhoïde (Riv. int. d'Igiene, I, 10, 1890).

Flugge, Les micro-organismes, traduction de Henrijean, Bruxelles, 1887.

Lyon. — Imp. Pitrat Ainé, A. Rey Succ., 4, rue Gentil. — 16605